Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 2, Summer 2024, p. 451-463

Application of Gamma Aminobutyric Acid Treatment on Frost Damage and Antioxidant Properties of Cavendish Banana (*Musa acuminata* cv. Cavendish) during Cold Storage

Z. Pakkish[1]*, S. Mohajerpour[2], S. Saadati[3]

1, 2 and 3- Associate Professor, Graduated M.Sc. and Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: zahrapakkish@uk.ac.ir)

Received: 30-12-2023 Revised: 25-02-2024 Accepted: 02-03-2024 Available Online: 02-03-2024	**How to cite this article:** Pakkish, Z., Mohajerpour, S., & Saadati, S. (2024). Application of gamma aminobutyric acid treatment on frost damage and antioxidant properties of cavendish banana (*Musa acuminata* cv. Cavendish) during cold storage. *Journal of Horticultural Science*, *38*(2), 451-463. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.86061.1314

Introduction

Fresh fruits and vegetables are physiologically active and perishable after harvest. Continued metabolic processes such as transpiration or respiration may significantly affect their quality and thus shorten their useful life. Since keeping at low temperatures and without freezing for a long time effectively reduces the physiological activity of the products, it can be used as a strategy to maintain the quality of the products and increase their life after harvesting. Among the most economically important tropical fruits, ripe green bananas are very sensitive to cold and when stored below the threshold temperature, they show all the symptoms of frost damage. While banana cultivars, maturity stage, and ripening all influence cold sensitivity, there's a growing interest in extending the shelf life of produce using natural, plant-friendly compounds. Gamma-aminobutyric acid (GABA), a naturally occurring four-carbon, non-protein amino acid found in plants, animals, and bacteria, is a promising candidate in this area.Abiotic stresses such as cold, heat, drought, ultraviolet rays and low oxygen can cause the accumulation of GABA in plants. Generally, the purpose of this research was to investigate the effect of gamma-aminobutyric acid treatment to improve freezing and antioxidant properties of Cavendish banana at 5 degrees Celsius for 24 days in 90% relative humidity.

Materials and Methods

Cavendish banana fruits (*Musa acuminata* cv. Cavendish) at the time of commercial maturity (ripe green) were obtained from a banana garden in Kerman and immediately transferred to the horticultural science laboratory of Shahid Bahoner University, Kerman. Healthy and uniform fruits were selected in terms of size, shape, color, and degree of ripening, and after washing with water and drying them, frost tolerance, malondialdehyde, and antioxidants were measured for zero day. GABA (Sigma-Aldrich, USA) required after weighing was dissolved in water and prepared in two concentrations of 2.5 and 5 mM. The fruits were divided into three groups of 54 and each repetition included 18 fruits. The first and second groups were immersed in GABA solution of 2.5 mM and 5 mM for 5 minutes, respectively. The third group was immersed in distilled water for 5 minutes and was used as a control (Khaliq *et al*., 2023). Each treatment was repeated three times. Then, all the fruits were dried in the air for one hour and kept for 24 days at 5 degrees Celsius and relative humidity of 85-90%. Biochemical observations were measured on days 0, 4, 8, 12, 16, 20 and 24 of storage.

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.86061.1314

Results and Discussion

The results of this research showed that frost damage gradually increased during the storage period and the control fruits showed significantly more frost damage symptoms than the fruits treated with GABA. GABA treatments of 2.5 and 5 mM at the end of the storage period reduced the amount of frost damage by 55.64 and 69.95%, respectively, compared to control fruits. As shown in Figure 1b, MDA content as an index of membrane lipid peroxidation in the control and GABA-treated fruit showed an upward trend, which was associated with the destruction of banana fruit membrane under cold stress. Compared to control, banana fruits treated with GABA showed lower MDA accumulation during the entire storage period at 4 degrees Celsius. On the last day of storage, GABA treatment with a concentration of 2.5 mM and 5 mM reduced the amount of MDA in banana fruits by 30.99% and 59.80%, respectively, compared to the control. Post-harvest treatment with GABA reduced frostbite, ion leakage and MDA levels in banana fruits, thereby maintaining fruit quality during low temperature storage. GABA treatment increased the activity of catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX), peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) enzymes in banana fruit compared to the control under low temperature storage. The activity of antioxidant enzymes CAT, APX, POD and SOD increased significantly until the 20th day of storage at low temperature, especially in the 5 mM GABA treatment compared to the other two treatments, and then decreased slightly at the end of the storage period. An increase in the concentration of oxygen free radicals, including hydrogen peroxide, leads to an increase in catalase enzyme activity. Catalase enzyme is often present in the peroxisome and causes the decomposition of hydrogen peroxide into water and oxygen. The specific activity of catalase enzyme increased during cold storage, especially in GABA treatments, so it seems that this enzyme is an efficient scavenger for removing hydrogen peroxide and thus causes better protection of cells against peroxidation. In the ascorbate-glutathione cycle, the ascorbate peroxidase enzyme reduces the amount of hydrogen peroxide by using ascorbate as an electron donor. In the present study, the activity of ascorbate peroxidase enzyme in GABA treatment was significantly higher than the control, which indicates the importance of the role of ascorbate peroxidase in plant tissues against oxidative damage. Guaiacol peroxidase enzyme is another antioxidant enzyme that decomposes hydrogen peroxide into water and oxygen. Peroxidase enzyme plays a role in the oxidation of precursors of phenolic compounds, lignin production, and removal of free radicals. The activity of peroxidase enzyme showed a similar trend in all three treatments, although its activity in GABA treatments was more than the control. Therefore, this enzyme effectively eliminated free radicals in banana fruits. In confirmation of these findings, it was reported in research that the activity of peroxidase enzyme increased in fir cuttings during the cold period. In research, post-harvest treatment of GABA with a concentration of 5 mM reduced frostbite and increased the activity of antioxidant enzymes such as CAT, APX, POD and SOD in peach fruits.

Conclusion

The results of this research showed that the applied post-harvest treatments reduced the signs of frostbite and preserved the antioxidant properties of banana fruits. Among the treatments, 5 mM concentration of GABA was the most effective treatment in the storage period. Therefore, GABA treatment can be used as a practical solution to reduce frostbite and preserve the antioxidant properties of Cavendish bananas during long-term storage.

Keywords: Antioxidant enzymes, GABA, Ion leakage, Malondialdehyde

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۳۸، شماره ۲، تابستان ۱٤٠۳، ص. ٤٦۳-٤٥١

کاربرد تیمار گاما آمینو بوتیریک اسید بر آسیب سرمازدگی و خواص آنتی‌اکسیدانی موز رقم 'کاوندیش' (*Musa acumin*ata cv. Cavendish) در طی انبارمانی سرد

زهرا پاک کیش[1*]- سمیه مهاجرپور[2]- صفورا سعادتی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۱۲

چکیده

در این پژوهش، تأثیر تیمار پس از برداشت گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) با غلظت‌های (صفر، ۲/۵ و ۵ میلی‌مولار) به‌صورت غوطه‌وری به‌مدت پنج دقیقه بر سرمازدگی و خواص آنتی‌اکسیدانی میوه موز در طی نگهداری در دمای پنج درجه سلسیوس مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌برداری هر چهار روز یک بار در روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ انبارمانی انجام گرفت. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. صفات مختلفی از قبیل آسیب سرمازدگی، مالون دی آلدهید، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، ظرفیت مهار رادیکال‌های DPPH و میزان تجمع H_2O_2 مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج این پژوهش نشان داد که میزان سرمازدگی در میوه‌های موز در پاسخ به تیمار ۵ میلی‌مولار گابا کمتر بود که با کاهش نشت یونی و تجمع مالون دی آلدهید همراه بود. میوه‌های شاهد، بیشترین میزان نشت یونی و آسیب سرمازدگی را داشتند. میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در میوه‌های موز در طی دوره انبارمانی سرد تحت تأثیر تیمارهای گابا در مقایسه با شاهد افزایش یافت. میزان تجمع H_2O_2 که از مهم‌ترین شاخص‌های تنش اکسیداتیو در سلول است، تحت انبارمانی در دمای پایین در شاهد بیش از تیمارهای گابا افزایش یافت. در تیمار ۵ میلی‌مولار گابا میزان H_2O_2 در طی دوره انبارمانی تقریباً ثابت ماند. به‌طور کلی، تیمار ۵ میلی‌مولار گابا مؤثرترین تیمار برای کاهش اثرات سرمازدگی و حفظ خواص آنتی‌اکسیدانی میوه‌های موز رقم 'کاوندیش' در دوره انبارمانی طولانی‌مدت بود.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، گابا، مالون دی آلدهید، نشت یونی

مقدمه

موز (*Musa* spp.) گیاهان غول‌پیکر تک‌لپه‌ای چند ساله از خانواده Musaceae و راسته Zingiberales هستند. موز برای امنیت غذایی در بسیاری از کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری حیاتی است و محبوب‌ترین میوه در کشورهای صنعتی است (D'hont *et al*., 2012). این میوه به‌دلیل داشتن مقادیر بالایی نشاسته، شکر، ویتامین‌های A وC، پتاسیم، سدیم و منیزیم از ارزش تغذیه‌ای بالایی برخوردار است و منبع مناسبی از انرژی است (Fernandes *et al*., 2006). در ایران، موز به‌صورت گسترده در استان‌های سیستان و بلوچستان، هرمزگان، کرمان و برخی مناطق دیگر کشت می‌شود. ایران با سطح زیر کشت ۴۱۲۷ هکتار مقام ۶۶ و با میزان تولید ۱۳۲۲۷۷/۹ تن مقام ۵۸ تولید موز جهان را به خود اختصاص داده است (FAOSTAT, 2022). میوه‌ها و سبزیجات تازه، پس از برداشت از نظر فیزیولوژیکی بسیار فعال و فاسدشدنی هستند. ادامه فرآیندهای متابولیکی مانند تعرق یا تنفس ممکن است به‌طور قابل توجهی بر کیفیت آن‌ها تأثیر بگذارد و در نتیجه، عمر مفید آن‌ها را کوتاه کند. ازآنجایی‌که نگهداری در دماهای پایین و بدون انجماد به‌مدت طولانی، به‌طور مؤثری فعالیت فیزیولوژیکی محصولات را کاهش می‌دهد، می‌تواند به‌عنوان یک راهکار به‌منظور حفظ کیفیت محصول و افزایش عمر پس از برداشت آن‌ها مورد استفاده قرار گیرد (Billiard, 1997; Herppich & Zsom, 2021).

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشیار، دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیار بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران
(*- نویسندۀ مسئول: Email: zahrapakkish@uk.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.86061.1314

میوه‌ها و سبزیجات نیمه گرمسیری و یا گرمسیری به دماهای پایین (کمتر از ۱۰ درجه سلسیوس) بسیار حساس هستند و قرارگیری آن‌ها در معرض چنین تنش سرمایی در حین انبارمانی، حمل‌ونقل و یا بازاررسانی، به آن‌ها آسیب‌های جدی وارد می‌کند. گزارش‌ها میزان تلفات محصولات فاسدشدنی، مانند میوه‌ها و سبزیجات، به‌طور میانگین ۶/۴ درصد را در مقایسه با ۳/۸–۲/۷ درصد برای سایر محصولات نشان می‌دهد. همچنین میزان تلفات میوه‌ها و سبزیجات در مناطق با درآمد متوسط پایین، با میانگین ۱۰ تا ۱۵ درصد در مقایسه با چهار تا هفت درصد برای اروپا و آمریکای شمالی، است. اگرچه نقصان آمار و اطلاعات قابل توجهی باقی مانده است و مقایسه نتایج در بین کشورها یا حتی بین بخش‌های درون آن‌ها همچنان چالش‌برانگیز است (Fabi *et al.*, 2021).

در بین مهم‌ترین میوه‌های استوایی از نظر اقتصادی، موز سبز رسیده بسیار حساس به سرماست و هنگامی که زیر دمای آستانه (تقریباً ۱۳ درجه سلسیوس) نگهداری شوند، تمام علائم صدمه سرمازدگی (Chilling injury) را بروز می‌دهند (Zsom *et al.*, 2018). اگرچه حساسیت به سرما در میوه موز به رقم، مرحله بلوغ و وضعیت رسیدگی (به‌عنوان مثال، تیمار شده با اتیلن یا خیر) بستگی دارد (Pongprasert *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2015). شرایط بهینه برای نگهداری و حمل‌ونقل موز سبز رسیده ۱۳ تا ۱۴ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۰ تا ۹۵ درصد و ۱۵ تا ۲۰ درجه سلسیوس برای رسیدن است (Elbagoury *et al.*, 2021; Hardenburg *et al.*, 1986). اگرچه نگهداری در دماهای پایین‌تر از حد آستانه باعث کاهش ازدست‌دهی وزن میوه، تنفس و بیوسنتز اتیلن میوه می‌شود، امّا CI را نیز القا می کند. علائم منحصربه‌فرد قابل مشاهده (تغییر رنگ سطح پوست و تغییر رنگ بافت زیر اپیدرمی) نشان می‌دهد که CI عمدتاً امّا نه منحصراً یک عارضه پوستی است. در موارد شدید، پوست می‌تواند قهوه‌ای تیره یا سیاه شود و در این صورت، گوشت میوه قهوه‌ای و بد طعم می‌شود (Luyckx *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2018). علائم CI به عوامل مختلفی مانند حساسیت یک گونه یا رقم خاص به دماهای پایین، شدت کاهش دما، مدت قرارگیری در معرض دماهای پایین، وضعیت فیزیولوژیکی و مرحله بلوغ محصول بستگی دارد. بااین‌حال، علائم آسیب سرمازدگی معمولاً در خرده‌فروشی پس از رفع دمای پایین، به‌شدت قابل مشاهده است و بر کیفیت و بازارپسندی محصول تأثیر منفی می‌گذارد (Aghdam & Bodbodak, 2014; Murata, 1969). غشای سلولی اولین جایی است که تحت تأثیر عوامل نامساعد محیطی قرار می‌گیرد. در شرایط تنش سرما فعالیت بخش‌های ساختاری غشا مانند فعالیت آنزیم‌های چسبیده به غشا و آنزیم‌هایی که محل حضورشان در غشا است، دچار اختلال می‌شوند (Wisniewski *et al.*, 2003). یکی از مهم‌ترین آسیب‌ها در مواجهه با سرما، وقوع پراکسیداسیون در چربی‌های غشا است که طی آن رادیکال‌های هیدروکسیل باعث تغییر در سیالیت، انسجام و نفوذپذیری غشا می‌شوند. مالون دی آلدئید یکی از محصولات سمی حاصل از تخریب غشاها است که به‌عنوان یک نشانگر زیستی حاصل از تخریب غشاها به‌طور وسیع برای بررسی مقاومت به سرما استفاده شده است (Saadati *et al.*, 2019).

تحت شرایط تنش سرما، تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن اجتناب‌ناپذیر است (Suzuki & Mittler, 2006). تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) برای سلول‌ها سمّی و مخرب است، زیرا باعث ایجاد صدمه به غشاهای سلولی، کلروپلاست، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود و متابولیسم عادی سلول را مختل می‌کند (Campos *et al.*, 2003). گیاهان در هنگام مواجهه با سرما مجهز به سازوکارهایی برای از بین بردن ROS از قبیل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز)، هستند (Janeczko *et al.*, 2009).

روش‌های مختلف پس از برداشت (تیمارهای شیمیایی، مدیریت زمان- دمای وابسته به محصول، تیمارهای دمایی کوتاه‌مدت مانند قرارگیری در معرض آب گرم، هوای گرم یا بخار گرم) برای کاهش علائم CI پیشنهاد شده است (Khademi *et al.*, 2019; Promyou *et al.*, 2008). امروزه افزایش عمر پس از برداشت محصولات باغی با استفاده از ترکیب‌های طبیعی و سازگار با گیاه، توجه زیادی را به خود معطوف کرده است. گاما آمینو بوتیریک اسید (GABA) یک ترکیب آمینو اسیدی چهار کربنه غیرپروتئینی است که به‌طور طبیعی در گیاهان، جانوران و باکتری‌ها یافت می‌شود (Heli *et al.*, 2022). گابا به‌عنوان یک نوع انتقال‌دهنده عصبی مهم در گیاهان و جانوران، در تنظیم انواع مسیرهای سیگنالینگ عصبی و عملکردهای فیزیولوژیکی شرکت می کند. در فعالیت‌های بیولوژیکی مختلف از جمله کاهش فشار خون، ضد درد، ضد اضطراب، کاهش اوره خون و بهبود فعالیت مغز نقش دارد و مشارکت در تنظیم فعالیت قلبی عروقی تأیید شده است (Ma *et al.*, 2015). تنش‌های غیرزیستی مانند سرما، گرما، خشکی، پرتو فرابنفش و اکسیژن کم، می‌تواند باعث انباشت GABA در گیاهان شود (Deewatthanawong *et al.*, 2010). گاما آمینو بوتیریک اسید در کاهش سرمازدگی پس از برداشت محصولات باغبانی نقش دارد و تیمار برون‌زاد آن موجب افزایش عمر انبارمانی میوه‌ها و سبزی‌ها و گل‌ها شده است. تیمار پس از برداشت GABA باعث کاهش سرمازدگی در میوه‌های هلو (Shang *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2011) و موز (Wang *et al.*, 2014) گردید.

بنابراین، هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر تیمار گاما آمینو بوتیریک اسید به‌منظور بهبود سرمازدگی و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی موز رقم کاوندیش در دمای پنج درجه سلسیوس به‌مدت ۲۴ روز در رطوبت نسبی ۹۰ درصد بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

میوه‌های موز رقم' کاوندیش' (*Musa acumin*ata cv. Cavendish) در زمان بلوغ تجاری (سبز رسیده) در فصل پاییز از یک باغ موز در کرمان تهیه و بلافاصله به آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه شهید باهنر کرمان منتقل شد. میوه‌های سالم و یکنواخت از لحاظ اندازه، شکل، رنگ و درجه رسیدگی انتخاب شدند.

پیاده کردن طرح آزمایشی و معرفی تیمارها

گابا (سیگما- آلدریچ، آمریکا) مورد نیاز پس از توزین در آب حل شده و در دو غلظت ۲/۵ و ۵ میلی‌مولار تهیه شد. میوه‌ها به سه گروه ۵۴ تایی تقسیم شدند و هر تکرار شامل ۱۸ میوه بود. گروه اول و دوم به‌ترتیب در محلول گابا ۲/۵ میلی‌مولار و ۵ میلی‌مولار به‌مدت پنج دقیقه غوطه‌ور شدند. گروه سوم به‌مدت پنج دقیقه در آب مقطر غوطه‌ور شد و به‌عنوان شاهد استفاده شد (Khaliq *et al*., 2023). هر تیمار سه بار تکرار شد. سپس، تمام میوه‌ها به‌مدت یک ساعت در هوا خشک شدند و به‌مدت ۲۴ روز در دمای پنج درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۹۰–۸۵ درصد نگهداری شدند. مشاهدات بیوشیمیایی در روزهای صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۰ و ۲۴ نگهداری اندازه‌گیری شد.

صفات اندازه‌گیری شده

آسیب سرمازدگی

آسیب سرمازدگی میوه‌ها در هر یک از زمان‌های نمونه‌برداری مورد بررسی قرار گرفت. میوه‌های دارای لکه‌های پوستی و اختلال-های ظاهری ناشی از سرمازدگی شمارش شدند. نمره آسیب سرمازدگی به‌صورت صفر (بدون صدمه)، ۱ (ملایم با تعداد لکه‌های پوستی کم)، ۲ (متوسط) و ۳ (شدید) گروه‌بندی شد. اندازه‌گیری آسیب سرمازدگی از تقسیم مجموع کل میوه‌هایی که آسیب سرمازدگی ظاهری نشان داده‌اند (لکه پوستی) بر کل میوه در هر تیمار به‌دست آمد و میزان آسیب سرمازدگی با استفاده از معادله زیر محاسبه شد.

$$\text{آسیب سرمازدگی} = \frac{\sum (\text{تعداد میوه‌ها در هر گروه} \times \text{نمره سرمازدگی گروه})}{\text{کل میوه‌های بررسی شده}}$$

مالون دی آلدهید

ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه با دو میلی‌لیتر بافر استخراج تری کلرو استیک اسید (TCA) یک درصد هموژنه شده و به‌مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. یک میلی‌لیتر از محلول رویی به‌دست آمده با چهار میلی‌لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد حاوی TCA ۲۰ درصد مخلوط و در حمام آب جوش (۹پنج درجه سلسیوس) به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. سپس، نمونه‌ها سریعاً سرد و مجدداً به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. برای حذف اثر ترکیبات مزاحم، جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر (A_{600}) قرائت شده و از مقدار جذب آن‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر (A_{532}) کم شد (Buege, 1978).

استخراج عصاره‌های آنزیمی

برای اندازه‌گیری فعالیت ویژه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ابتدا ۰/۵ گرم بافت میوه توزین و سپس با یک میلی‌لیتر بافر استخراج به‌طور کامل همگن شد. بافر استخراج شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH ۷/۸ حاوی دو میلی‌مولار اتیل دی آمین تترا استیک اسید، چهار درصد تریتون، ۵۰ میلی‌مولار تریس و دو میلی‌مولار دی تیوتریتول (در آب دیونیزه استریل) بود. عصاره حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در چهار درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بخش شفاف واقع در بالای عصاره برای سنجش آنزیم‌های آنتی-اکسیدان و پروتئین‌های محلول به‌کار گرفته شد.

فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز

برای این منظور، سه میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷) و پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار، با ۰/۰۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیم مخلوط شد. با ردیابی اسپکتروفتومتری تجزیه H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر، فعالیت آنزیم کاتالاز اندازه‌گیری شد (Aebi, 1983).

فعالیت ویژه آنزیم آسکوربات پراکسیداز

برای شروع واکنش، سه میلی‌لیتر بافر واکنش شامل بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار (pH ۷)، پراکسید هیدروژن ۰/۵ میلی‌مولار، آسکوربات پنج میلی‌مولار با ۰/۰۵ میلی‌لیتر عصاره آنزیم مخلوط شد. فعالیت آسکوربات پراکسیداز با استفاده از اسپکتروفتومتر و با اندازه‌گیری کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر محاسبه شد (Nakano & Asada, 1980).

فعالیت ویژه آنزیم پرکسیداز

به این منظور، به سه میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم حاوی ۴/۵ میکرولیتر هیدروژن پراکسید، ۳/۳۵ میکرولیتر گایاکول و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه و در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت دو دقیقه قرائت شد (Maehly & Chance, 1954).

فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

برای تهیه ترکیب واکنش، سه میلی‌لیتر بافر فسفات عمومی، ۳۳ میکرولیتر نیتروبلوتترازولیوم، ۳۳ میکرولیتر ریبوفلاوین و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی داخل لوله آزمایش استریل ریخته و بلافاصله به‌مدت ۱۵ دقیقه زیر نور لامپ فلورسانس ۱۵ وات قرار داده شد. جهت تعیین میزان فعالیت آنزیم، مخلوط حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر طیف‌سنجی شد (Sairam & Saxena, 2000).

پروتئین‌های محلول

بدین منظور، غلظت‌های صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ گرم در لیتر سرم آلبومین گاوی (BSA) در آب مقطر تهیه شد و منحنی استاندارد آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر رسم شد. میزان پروتئین‌های محلول پس از قرائت میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر و مقایسه با منحنی استاندارد برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر تعیین شد (Bradford, 1976).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از روش درصد مهار رادیکال‌های DPPH (۲، ۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازید) استفاده شد (Sanna *et al.*, 2012). ابتدا به‌منظور تهیه عصاره گیاهی ۰/۵ گرم از بافت میوه با پنج میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد ترکیب و روی شیکر با سرعت ۱۵۰ دور بر دقیقه برای مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط قرار داده شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره رویی با پنج میلی‌لیتر از محلول DPPH ۰/۱ میلی‌مولار (چهار میلی‌گرم پودر DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد) مخلوط شد. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه جذب نمونه گیاهی و شاهد (پنج میلی‌لیتر DPPH + ۰/۱ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد) در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

پراکسید هیدروژن

میزان پراکسید هیدروژن بر اساس واکنش H_2O_2 با پتاسیم یدید (KI) تعیین گردید. در این روش، ۵۰۰ میلی‌گرم از نمونه در پنج میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد در حمام آب یخ ساییده شد. عصاره حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. سپس، به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار و اسیدیته ۷/۵ و یک میلی‌لیتر پتاسیم یدید یک مولار اضافه گردید. مخلوط واکنش به‌مدت یک ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار گرفت. جذب نمونه‌ها نیز در طول موج ۳۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Alexieva *et al.*, 2001).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. آنالیز آماری با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

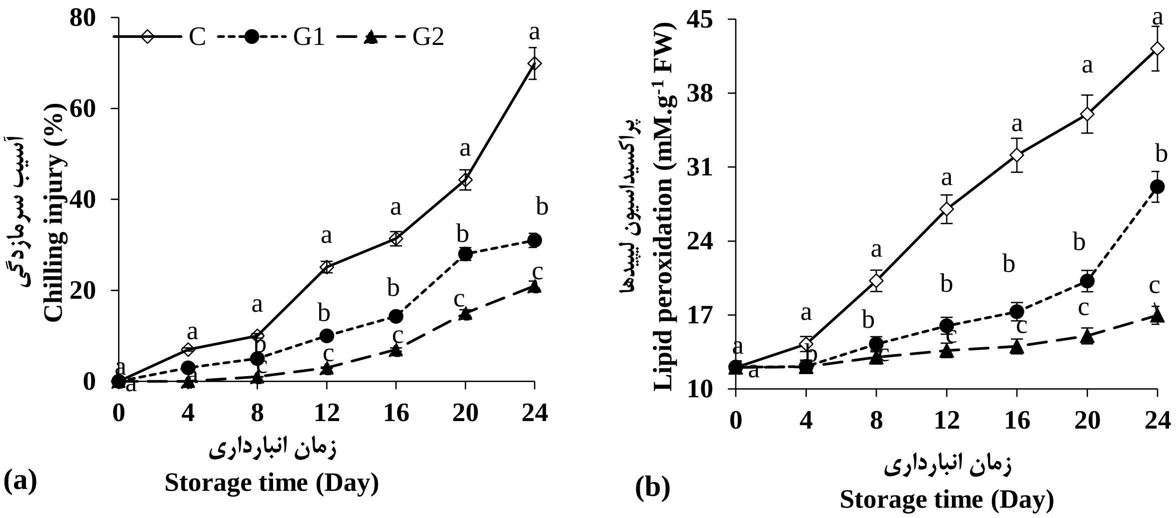
آسیب سرمازدگی

نتایج این پژوهش نشان داد که آسیب سرمازدگی در طی دوره انبارمانی به‌تدریج افزایش یافت و میوه‌های شاهد به‌طور معنی‌داری ($P<0.05$) نشانه‌های سرمازدگی بیشتری نسبت به میوه‌های تیمار شده با گابا نشان دادند (شکل 1a). تیمارهای گابا ۲/۵ و ۵ میلی‌مولار در انتهای دوره انبارمانی (روز بیست و چهارم)، به‌ترتیب میزان آسیب سرمازدگی را ۵۵/۶۴ و ۶۹/۹۵ درصد نسبت به میوه‌های شاهد کاهش دادند. بنابراین، علائم آسیب سرما به‌وضوح در میوه‌های موز تیمار شده با گابا مهار شد. پژوهش‌های مشابهی در سایر میوه‌های تیمار شده با گابا مانند هلو (Shang *et al.*, 2011)، موز (Ngaffo Mekontso *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2014; Zhou *et al.*, 2022) و خیار (Malekzadeh *et al.*, 2017) مشاهده شده است. غشای سلولی، اولین خط دفاعی برای محافظت از سلول در هنگام تنش است. رخداد اولیه‌ای که در طی تنش سرمایی رخ می‌دهد، تخریب غشای پلاسمایی است (Mditshwa *et al.*, 2023). هنگامی که گیاهان حساس به سرما تحت تنش دمای پایین قرار می‌گیرند، غشای سلولی از یک ساختار انعطاف‌پذیر به یک ساختار سفت تغییر می‌کند و این می‌تواند باعث ایجاد ترک و نشت آب، یون‌ها و متابولیت‌ها شود (Wolfe, 1978). تحت تنش سرما، تغییرات در ساختار غشای سلولی بر سیالیت و عملکرد غشا تأثیر می‌گذارد (Liang *et al.*, 2020). نشت الکترولیت به‌عنوان پارامتری برای ارزیابی پایداری و نفوذپذیری غشای سلولی استفاده می شود. تخریب ساختار غشای سلولی با تغییر نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع/اشباع و افزایش سطح نشت الکترولیت اتفاق می‌افتد (Marangoni et al., 1996). نقش گابا در حفظ یکپارچگی و سیالیت غشای سلولی به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. به‌عنوان مثال، تیمارهای گابا با محافظت از ساختار غشای سلولی، تحمل سرما

را در میوه‌های پرتقال خونی بهبود بخشید (Habibi *et al*., 2019). تیمار گابا ممکن است نشت الکترولیت را مهار کند و متعاقباً یکپارچگی غشای سلولی را در میوه موز تیمار شده حفظ کند.

مالون دی آلدهید

همان‌طور که در شکل ۱b نشان داده شده است، محتوای MDA به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در میوه شاهد و تیمار شده با گابا روند صعودی را نشان دادند که با از بین رفتن غشای میوه موز تحت تنش سرما همراه بود. میوه‌های موز تیمار شده با گابا در مقایسه با شاهد، تجمع MDA کمتری را در کل مدت نگهداری در دمای چهار درجه سلسیوس نشان دادند. در روز آخر انبارمانی (روز بیست و چهارم) تیمار گابا با غلظت ۲/۵ میلی‌مولار و ۵ میلی‌مولار به‌ترتیب ۳۰/۹۹ درصد و ۸۰/ درصد۵۹ مقدار MDA را در میوه‌های موز نسبت به شاهد کاهش داد. مالون دی آلدهید، محصول جانبی پراکسیداسیون لیپیدی و نشانگر آسیب اکسیداتیو سلولی است. پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی یکی از علائم اولیه بیوشیمیایی آسیب سرمازدگی است و افزایش تولید MDA نشانه آسیب غشای سلولی است (Ramos-Ruiz *et al*., 2019). تخریب لیپیدها و پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع از دلایل اصلی تجزیه غشا هستند. پژوهش‌های پیشین نشان داده است که افزایش تجمع MDA و نشت یون همبستگی نزدیکی با تنش سرما در گیاهان دارد (Ding *et al*., 2007). افزایش نشت یون و MDA در بسیاری از میوه‌ها و سبزیجاتی که از آسیب ناشی از سرما رنج می‌برند، مشاهده شده است (Valenzuela *et al*., 2017). در این پژوهش نیز تیمار پس از برداشت گابا باعث کاهش سرمازدگی، نشت یونی و میزان مالون دی آلدهید در میوه‌های موز شد و از این طریق، موجب حفظ کیفیت میوه در طی دوره انبارمانی در دمای پایین شد.



شکل ۱- اثر تیمار گابا (G1 =۲/۵ mM و G2 =۵ mM) بر میزان آسیب سرمازدگی (a) و محتوی مالون دی آلدهید (b) میوه‌های موز طی انبارمانی در دمای ۵ °C

Figure 1- The effect of GABA treatment (G1 = 2.5 mM and G2 = 5 mM) on the chilling injury (a) and lipid peroxidation content (b) of banana fruits during storage at 5 ◦C

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر زمان نمونه‌گیری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

The averages with at least one common letter in each sampling time have no significant difference at the 5% probability level using the LSD test.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

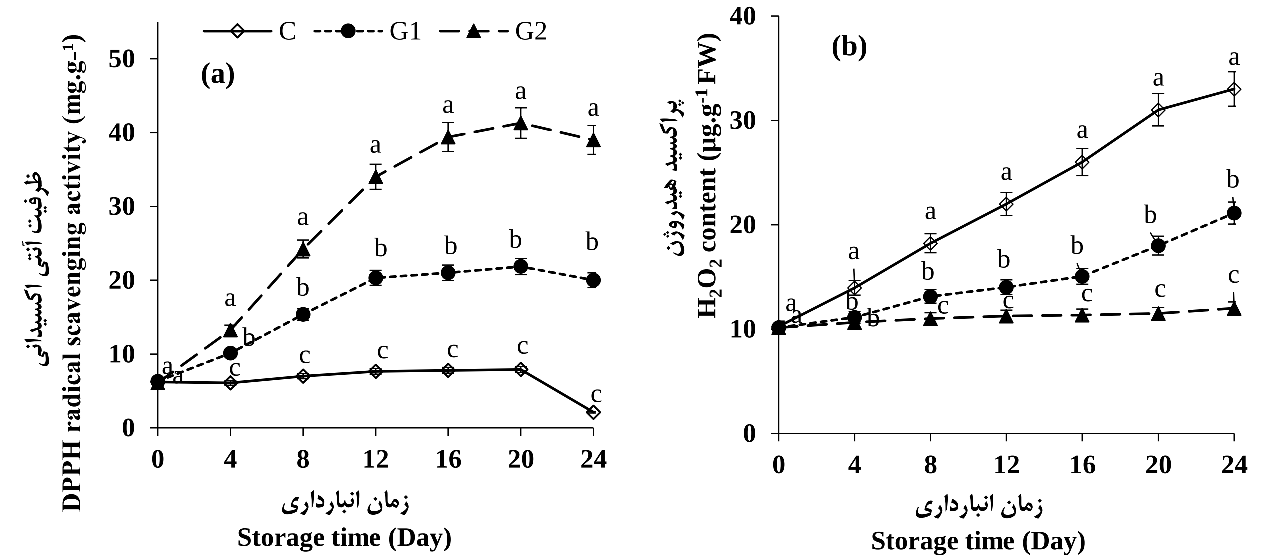
میوه‌های موز تیمار شده با گابا و شاهد با زمان نگهداری افزایش در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نشان دادند. در مقایسه با گروه شاهد، میوه تیمار شده با گابا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری را در کل انبار حفظ کرد. در روز آخر انبارمانی کاهش در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تمام تیمارها مشاهده شد، اگرچه این کاهش در شاهد شدیدتر بود (شکل ۲a). انواع مختلفی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی وجود دارد که می‌توانند به ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی کمک کنند. بااین‌حال، مشخص نیست که کدام ترکیبات عمدتاً مسئول افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی هستند. در پژوهشی گزارش داده شد که میوه‌های موز تیمار شده با گابا تجمع ترکیبات فنولی بالاتری را نشان دادند که ناشی از فعالیت آنزیم پلی فنل آمونیالیاز بالاتر است که باعث افزایش ظرفیت DPPH می‌شود که نه تنها برای سلامت مصرف‌کننده مفید است، بلکه برای حفظ یکپارچگی غشاء نیز حیاتی است (Wang *et al*., 2014). همچنین

در پژوهشی دیگر، افزایش فعالیت آنزیم‌های پلی فنل آمونیالیاز نسبت به پلی فنول اکسیداز در گل‌های آنتوریم در پاسخ به تیمار کاربرد خارجی گابا، مسئول افزایش ترکیبات فنولی شده که در نتیجه باعث افزایش ظرفیت مهار DPPH می‌شود (Aghdam *et al.*, 2015).

میزان تجمع H2O2

میزان تجمع H_2O_2 که از مهم‌ترین شاخص‌های تنش اکسیداتیو در سلول است، تحت انبارمانی در دمای پایین در شاهد بیش از تیمارهای گابا افزایش یافت (شکل ۲b). بنابراین، درجه خسارت ناشی از تجمع گونه‌های اکسیژن فعال و در نتیجه آن درجه تحمل به تنش سرما در تیمارهای گابا با شاهد متفاوت است. در تیمار ۵ میلی‌مولار گابا میزان H_2O_2 در طی دوره انبارمانی تقریباً ثابت ماند، این نتایج بیانگر ارتباط احتمالی تأثیر پاسخ‌های دفاعی در تیمار گاباست.

هم متابولیسم منظم سلولی و هم شرایط تنش زیستی و غیرزیستی متعدد منجر به تولید ROS می‌شود (Hilal *et al.*, 2023). ROS بسته به غلظت آن‌ها در سلول‌های گیاهی، نقش دوگانه مفید و یا مضر دارند. غلظت‌های پایین ROS به‌عنوان یک پیام‌رسان ثانویه در مسیرهای انتقال سیگنال که واسطه پاسخ‌های فیزیولوژیکی متعدد در گیاهان است، عمل می‌کند (Apel & Hirt, 2004). بااین‌حال، تولید بیش از حد ROS در طی تنش می‌تواند هموستاز سلولی را مختل کند و حتی منجر به مرگ سلولی شود (Aghdam *et al.*, 2016). بنابراین، برای اطمینان از متابولیسم سلولی طبیعی، لازم است سطوح متعادل ROS در یک محدوده مشخص حفظ شود. در طی تنش سرما، تولید بیش از حد ROS باعث آسیب اکسیداتیو به کلروپلاست، میتوکندری و آپوپلاست و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود، در نتیجه سیستم غشایی را از بین می‌برد، باعث اختلالات متابولیکی می‌شود و در نهایت، منجر به تجزیه سلول می‌شود (Blokhina *et al.*, 2003).



شکل ۲- اثر تیمار گابا (G1 =۲/۵ mM و G2 =۵ mM) بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (a) و پراکسید هیدروژن (b) میوه‌های موز طی انبارمانی در دمای ۵ °C

Figure 2- The effect of GABA treatment (G1 = 2.5 mM and G2 = 5 mM) on the DPPH radical scavenging activity (a) and hydrogen peroxide (b) of banana fruits during storage at 5 °C

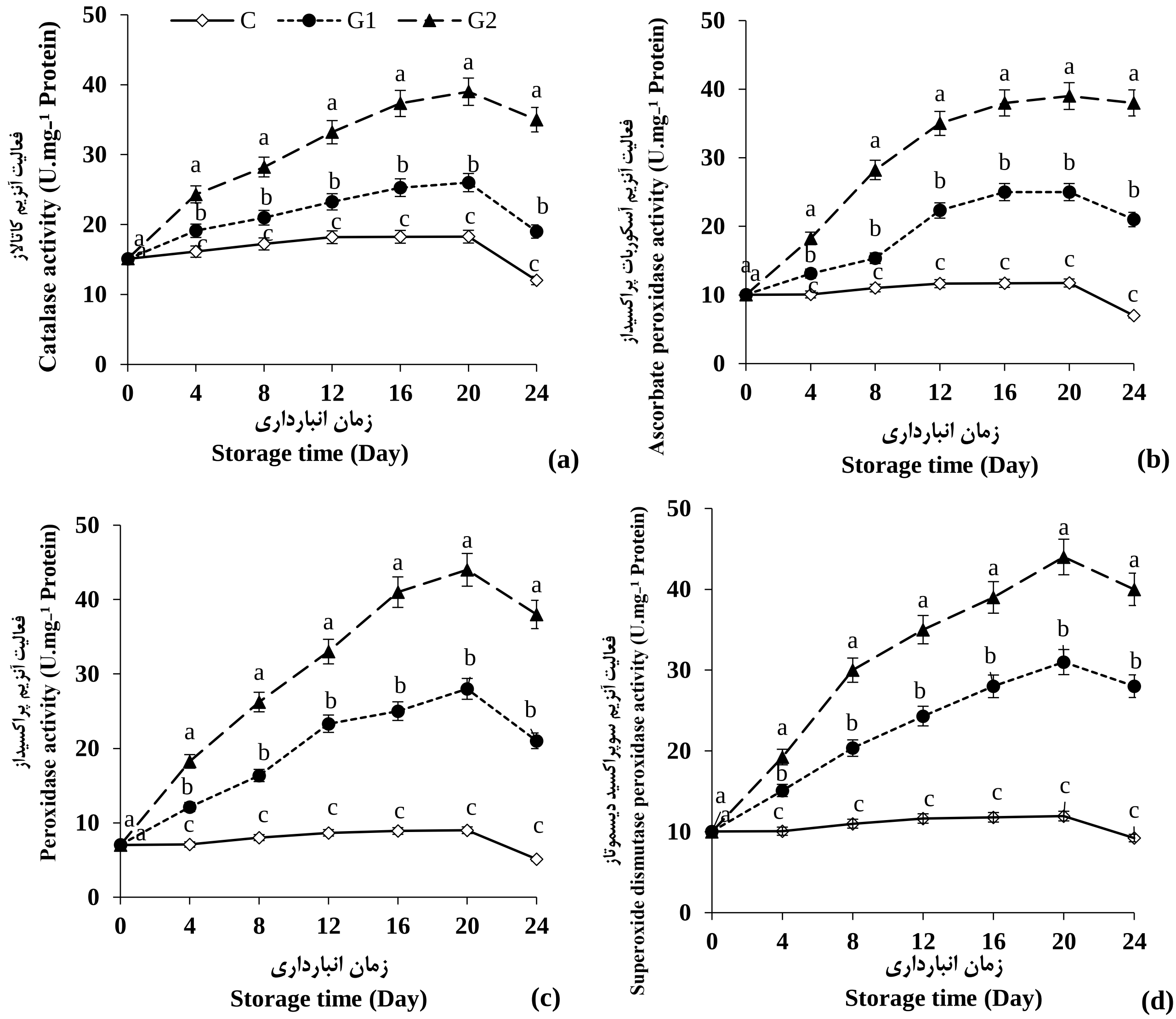
میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر زمان نمونه‌گیری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

The averages with at least one common letter in each sampling time have no significant difference at the 5% probability level using the LSD test.

شواهد متعددی نشان داده‌اند که آسیب ناشی از سرما در میوه‌ها می‌تواند تا حدی به عدم تعادل تولید ROS در طی دوره تنش نسبت داده شود. تنش سرمایی سطوح ROS را افزایش می‌دهد که پراکسیداسیون لیپیدی را تحریک می‌کند و در نهایت، منجر به تخریب غشای سلولی می‌شود (Mohammadrezakhani *et al.*, 2019).

ROS با تولید رادیکال‌های هیدروکسیل پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و آسیب اکسیداتیو را افزایش می‌دهد (Malekzadeh *et al.*, 2017). تیمار گابا، تجمع H_2O_2 را کاهش داد و مکانیسم سازگاری با سرما را در گل‌های بریده پرتقال خونی افزایش داد (Habibi *et al.*, 2019). روند H_2O_2 در پژوهش حاضر مشابه نتایجی بود که در آن میوه‌های

گیلاس تیمار شده با گابا تولید H_2O_2 را به تاخیر انداختند (Rabiei *et al.*, 2019). ازاین‌رو، نتایج نشان می‌دهد که تیمار گابا ممکن است H_2O_2 و سایر ROS را از بین ببرد و در نتیجه، آسیب اکسیداتیو کمتری در میوه‌های موز تیمار شده ایجاد کند.



شکل ۳- اثر تیمار گابا (G_1 =۲/۵ mM و G_2 =۵ mM) روی فعالیت آنزیم کاتالاز (a)، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (b)، فعالیت آنزیم پراکسیداز (c) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (d) میوه‌های موز طی انبارمانی در دمای ۵ °C

Figure 3- The effect of GABA treatment (G1 = 2.5 mM and G2 = 5 mM) on catalase enzyme activity (a), ascorbate peroxidase enzyme activity (b), peroxidase enzyme activity (c) and superoxide dismutase enzyme activity (d) of fruit Bananas during storage at 5 °C

میانگین های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر زمان نمونه‌گیری در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

The averages with at least one common letter in each sampling time have no significant difference at the 5% probability level using the LSD test.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

تیمار گابا فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، پراکسیداز (POD) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) را در میوه موز در مقایسه با شاهد تحت انبارمانی در دمای پایین افزایش داد (شکل ۳ a–d). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان CAT، APX، POD و SOD تا روز بیستم انبارمانی در دمای پایین مخصوصاً در تیمار ۵

میلی‌مولار گابا نسبت به دو تیمار دیگر، به‌طور چشمگیری افزایش یافت و پس از آن در پایان دوره انبار مانی اندکی کاهش پیدا کرد.

افزایش غلظت رادیکال‌های آزاد اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن منجر به افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شود (Renaut *et al.*, 2006). آنزیم کاتالاز غالباً در پروکسی‌زوم وجود دارد و سبب تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شود (Sudhakar *et al.*, 2001). فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز در دوره انبارمانی سرد مخصوصاً در تیمارهای گابا افزایش یافت، بنابراین به نظر می‌رسد که این آنزیم، جاروبگر کارآمدی برای حذف پراکسید هیدروژن است و در نتیجه، باعث حفاظت بهتر سلول‌ها در برابر پراکسیداسیون می‌شود. مشابه با نتایج این تحقیق، در پژوهشی گزارش داده شد که تیمار گابا، سرمازدگی پس از برداشت میوه گوجه فرنگی را در طی نگهداری از طریق تحریک فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی کاهش داد که در حفظ انسجام غشای سلولی مؤثر است (Moradi *et al.*, 2019).

در چرخه آسکوربات- گلوتاتیون، آنزیم آسکوربات پراکسیداز با مصرف آسکوربات به‌عنوان دهنده الکترون، مقدار پراکسید هیدروژن را کاهش می‌دهد (Shi *et al.*, 2007). در پژوهش حاضر، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار گابا به‌طور معنی‌داری بالاتر از شاهد بود که بیانگر اهمیت نقش آسکوربات پراکسیداز در بافت‌های گیاهی در برابر آسیب اکسیداتیو است.

آنزیم گایاکول پراکسیداز یکی دیگر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی است که پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند. آنزیم پراکسیداز در اکسیداسیون پیش‌ماده‌های ترکیبات فنلی، ساخت لیگنین و حذف رادیکال‌های آزاد نقش دارد (Sudhakar *et al.*, 2001). فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر سه تیمار روندی مشابه داشت، اگرچه فعالیت آن در تیمارهای گابا بیش از شاهد بود. بنابراین، این آنزیم به‌طور کارآمدی موجب حذف رادیکال‌های آزاد در میوه‌های موز شد. در تأیید این یافته‌ها، در پژوهشی گزارش شد که فعالیت آنزیم پراکسیداز در قلمه‌های صنوبر در طی دوره سرما افزایش یافت (Luo *et al.*, 2007).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، اولین خط دفاعی سلول در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. معمولاً رادیکال سوپراکسید اولین رادیکال آزادی است که در طی تنش تولید می‌شود و آنزیم سوپراکسید دیسموتاز سریعاً رادیکال سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن و اکسیژن مولکولی تبدیل می‌کند و با حذف سوپراکسید نقش حیاتی‌تری را در سیستم آنتی‌اکسیدانی نسبت به آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز ایفا می کند، لذا سبب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی می‌شود (Gill & Tuteja, 2010; Shi *et al.*, 2007). در پژوهشی تیمار پس از برداشت گابا با غلظت ۵ میلی‌مولار باعث کاهش سرمازدگی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند CAT، APX، POD و SOD در میوه‌های هلو شد (Yang *et al.*, 2011). در پژوهشی دیگر روی گیاه فلفل سیاه، تیمار با گابا موجب افزایش مقاومت در برابر تنش اسمزی از طریق افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شد (Vijayakumari & Puthur, 2016).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که تیمارهای پس از برداشت به‌کار رفته باعث کاهش نشانه‌های سرمازدگی و حفظ خواص آنتی‌اکسیدانی میوه‌های موز شدند. در بین تیمارها، غلظت ۵ میلی‌مولار گابا مؤثرترین تیمار در دوره انبارمانی بود. بنابراین، تیمار گابا می‌تواند به عنوان راهکاری کاربردی برای کاهش سرمازدگی و حفظ خواص آنتی‌اکسیدانی میوه موز رقم کاوندیش در دوره انبارمانی طولانی‌مدت مورد استفاده قرار گیرد.

References

1- Aebi, H.E. (1983). Catalase in methods of enzyme analysis. *Bergmeyer*, *3*, 273–285. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-091302-2.50032-3

2- Aghdam, M.S., & Bodbodak, S. (2014). Postharvest heat treatment for mitigation of chilling injury in fruits and vegetables. *Food and Bioprocess Technology*, *7*, 37–53. https://doi.org/10.1007/s11947-013-1207-4

3- Aghdam, M.S., Naderi, R., Jannatizadeh, A., Sarcheshmeh, M.A.A., & Babalar, M. (2016). Enhancement of postharvest chilling tolerance of anthurium cut flowers by γ-aminobutyric acid (GABA) treatments. *Scientia Horticulturae*, *198*, 52–60. https://doi.org/10.22069/JOPP.2019.14927.2393

4- Aghdam, M.S., Naderi, R., Sarcheshmeh, M.A.A., & Babalar, M. (2015). Amelioration of postharvest chilling injury in anthurium cut flowers by γ-aminobutyric acid (GABA) treatments. *Postharvest Biology and Technology*, *110*, 70–76. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.06.020

5- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment*, *24*(12), 1337–1344. https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00778.x

6- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology, 55*, 373–399. https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701
7- Billiard, F. (1997). Fruit cold storage: Techniques and equipment. *International Symposium Effect of Pre-& Postharvest Factors in Fruit Storage, 485*, 61–70. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.485.7
8- Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage, and oxygen deprivation stress: A review. *Annals of Botany*, *91*(2), 179–194. https://doi.org/10.1093/aob/mcf118
9- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254. https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999
10- Buege, J. A. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzymology*, *52*, 302–310. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(78)52032-6
11- Campos, P.S., Nia Quartin, V., Chicho Ramalho, J., & Nunes, M.A. (2003). Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea sp.* plants. *Journal of Plant Physiology*, *160*(3), 283–292. https://doi.org/10.1078/0176-1617-00833
12- Deewatthanawong, R., Nock, J.F., & Watkins, C.B. (2010). γ-Aminobutyric acid (GABA) accumulation in four strawberry cultivars in response to elevated CO_2 storage. *Postharvest Biology and Technology*, *57*(2), 92–96. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.03.003
13- D'hont, A., Denoeud, F., Aury, J.M., Baurens, F.C., Carreel, F., Garsmeur, O., Noel, B., Bocs, S., Droc, G., & Rouard, M. (2012). The banana (*Musa acuminata*) genome and the evolution of monocotyledonous plants. *Nature*, *488*, 213–217. https://doi.org/10.1038/nature11241
14- Ding, Z., Tian, S., Zheng, X., Zhou, Z., & Xu, Y. (2007). Responses of reactive oxygen metabolism and quality in mango fruit to exogenous oxalic acid or salicylic acid under chilling temperature stress. *Physiologia plantarum*, *130*, 112–121. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00893.x
15- Elbagoury, M.M., Turoop, L., Runo, S., & Sila, D.N. (2021). Regulatory influences of methyl jasmonate and calcium chloride on chilling injury of banana fruit during cold storage and ripening. *Food Science and Nutrition*, *9*(2), 929–942. https://doi.org/10.1002/fsn3.2058
16- Fabi, C., Cachia, F., Conforti, P., English, A., & Moncayo, J. R. (2021). Improving data on food losses and waste: From theory to practice. *Food Policy*, *98*, 101934. https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2020.101934
17- FAOSTAT, (2022). Available: http://www.fao.org/faostat/en/.
18- Fernandes, F.A.N., Rodrigues, S., Gaspareto, O.C.P., & Oliveira, E.L. (2006). Optimization of osmotic dehydration of bananas followed by air-drying. *Journal of Food Engineering*, *77*(1), 188–193. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.05.058
19- Gill, S.S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909–930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016
20- Habibi, F., Ramezanian, A., Rahemi, M., Eshghi, S., Guillén, F., Serrano, M., & Valero, D. (2019). Postharvest treatments with γ-aminobutyric acid, methyl jasmonate, or methyl salicylate enhance chilling tolerance of blood orange fruit at prolonged cold storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *99*(14), 6408–6417. https://doi.org/10.1002/jsfa.9920
21- Hardenburg, R.E., Watada, A.E., & Wang, C.Y. (1986). *The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks* (Issue 66). US Department of Agriculture, Agricultural Research Service.
22- Heli, Z., Hongyu, C., Dapeng, B., Yee Shin, T., Yejun, Z., Xi, Z., & Yingying, W. (2022). Recent advances of γ-aminobutyric acid: Physiological and immunity function, enrichment, and metabolic pathway. *Frontiers in Nutrition*, *9*, 1076223. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1076223
23- Herppich, W.B., & Zsom, T. (2021). Comprehensive assessment of the dynamics of banana chilling injury by advanced optical techniques. *Applied Sciences*, *11*(23), 11433. https://doi.org/10.3390/app112311433
24- Hilal, B., Khan, T.A., & Fariduddin, Q. (2023). Recent advances and mechanistic interactions of hydrogen sulfide with plant growth regulators in relation to abiotic stress tolerance in plants. *Plant Physiology and Biochemistry, 196*, 1065-1083. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.03.006
25- Janeczko, A., Hura, K., Skoczowski, A., Idzik, I., Biesaga-Kościelniak, J., & Niemczyk, E. (2009). Temperature-dependent impact of 24-epibrassinolide on the fatty acid composition and sugar content in winter oilseed rape callus. *Acta Physiologiae Plantarum*, *31*, 71–79. https://doi.org/10.1007/s11738-008-0202-2
26- Khademi, O., Ashtari, M., & Razavi, F. (2019). Effects of salicylic acid and ultrasound treatments on chilling injury control and quality preservation in banana fruit during cold storage. *Scientia Horticulturae*, *249*, 334–339. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.018
27- Khaliq, G., Ali, S., Ejaz, S., Abdi, G., Faqir, Y., Ma, J., Siddiqui, M.W., & Ali, A. (2023). γ-Aminobutyric acid is involved in overlapping pathways against chilling injury by modulating glutamate decarboxylase and defense responses in papaya fruit. *Frontiers in Plant Science*, *14*. https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1233477

28-Liang, S., Kuang, J., Ji, S., Chen, Q., Deng, W., Min, T., Shan, W., Chen, J., & Lu, W. (2020). The membrane lipid metabolism in horticultural products suffering chilling injury. *Food Quality and Safety*, *4*, 9–14. https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyaa001

29-Luo, L., Lin, S., Zheng, H., Lei, Y., Zhang, Q., & Zhang, Z. (2007). The role of antioxidant system in freezing acclimation-induced freezing resistance of Populus suaveolens cuttings. *Forestry Studies in China*, *9*, 107–113. https://doi.org/10.1007/s11632-007-0016-0

30-Luyckx, A., Lechaudel, M., Hubert, O., Salmon, F., & Brat, P. (2016). Banana peel physiological post-harvest disorders: A review. *MOJ Food Processing & Technology, 3(1),* 00060. https://doi.org/10.15406/MOJFPT.2016.03.00060

31-Ma, P., Li, T., Ji, F., Wang, H., & Pang, J. (2015). Effect of GABA on blood pressure and blood dynamics of anesthetic rats. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, *8*(8), 14296.

32-Maehly, A., & Chance, B. (1954). Catalases and peroxidases. *Methods Biochem Anal*, *1*, 357–424. https://doi.org/10.1002/9780470110171.ch14

33-Malekzadeh, P., Khosravi-Nejad, F., Hatamnia, A.A., & Sheikhakbari Mehr, R. (2017). Impact of postharvest exogenous γ-aminobutyric acid treatment on cucumber fruit in response to chilling tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *23*, 827–836. https://doi.org/10.1007/s12298-017-0475-2

34-Marangoni, A.G., Palma, T., & Stanley, D.W. (1996). Membrane effects in postharvest physiology. *Postharvest Biology and Technology*, *7*(3), 193–217. https://doi.org/10.1016/0925-5214(95)00042-9

35-Mditshwa, A., Khaliq, G., Hussein, Z., & Ejaz, S. (2023). Sustainable postharvest management practices for fresh produce. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *7*, 1143759. https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1143759

36-Mohammadrezakhani, S., Hajilou, J., Rezanejad, F., & Zaare-Nahandi, F. (2019). Assessment of exogenous application of proline on antioxidant compounds in three *Citrus* species under low temperature stress. *Journal of Plant Interactions*, *14*(1), 347–358. https://doi.org/10.1080/17429145.2019.1629033

37-Moradi, M., Razavi, F., Rabiei, V., Soleimani Aghdam, M., & Salehi, L. (2019). The effect of gamma aminobutyric acid (GABA) treatment on post-harvest frostbite of tomato fruit. *Horticultural Sciences, 34*, 221-230. (In Persian). https://doi.org/10.22067/JHORTS4.V34I2.78718

38-Murata, T. (1969). Physiological and biochemical studies of chilling injury in bananas. *Physiologia Plantarum*, *22*(2), 401–411. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1969.tb07392.x

39-Nakano, Y., & Asada, K. (1980). Spinach chloroplasts scavenge hydrogen peroxide on illumination. *Plant and Cell Physiology*, *21*(8), 1295–1307. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076128

40-Ngaffo Mekontso, F., Duan, W., Cisse, E.H.M., Chen, T., & Xu, X. (2021). Alleviation of postharvest chilling injury of carambola fruit by γ-aminobutyric acid: Physiological, biochemical, and structural characterization. *Frontiers in Nutrition*, *8*, 752583. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.752583

41-Nguyen, T.B.T., Ketsa, S., & Van Doorn, W.G. (2003). Relationship between browning and the activities of polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, *30*(2), 187–193. https://doi.org/10.1016/S0925-5214(03)00103-0

42-Pongprasert, N., Sekozawa, Y., Sugaya, S., & Gemma, H. (2011). A novel postharvest UV-C treatment to reduce chilling injury (membrane damage, browning and chlorophyll degradation) in banana peel. *Scientia Horticulturae*, *130*(1), 73–77. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.06.006

43-Promyou, S., Ketsa, S., & van Doorn, W.G. (2008). Hot water treatments delay cold-induced banana peel blackening. *Postharvest Biology and Technology*, *48*(1), 132–138. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.006

44-Rabiei, V., Kakavand, F., Zaare-Nahandi, F., Razavi, F., & Aghdam, M.S. (2019). Nitric oxide and γ-aminobutyric acid treatments delay senescence of cornelian cherry fruits during postharvest cold storage by enhancing antioxidant system activity. *Scientia Horticulturae*, *243*, 268–273. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.08.034

45-Ramos-Ruiz, R., Martinez, F., & Knauf-Beiter, G. (2019). The effects of GABA in plants. *Cogent Food and Agriculture*, *5*, 1670553. https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1670553

46-Renaut, J., Hausman, J., & Wisniewski, M.E. (2006). Proteomics and low-temperature studies: bridging the gap between gene expression and metabolism. *Physiologia Plantarum*, *126*(1), 97–109. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2006.00617.x

47-Saadati, S., Baninasab, B., Mobli, M., & Gholami, M. (2019). Measurements of freezing tolerance and their relationship with some biochemical and physiological parameters in seven olive cultivars. *Acta Physiologiae Plantarum*, *41*, 1–11. https://doi.org/10.1007/s11738-019-2843-8

48-Sairam, R.K., & Saxena, D.C. (2000). Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *184*(1), 55–61. https://doi.org/10.1046/j.1439-037x.2000.00358.x

49- Sanna, D., Delogu, G., Mulas, M., Schirra, M., & Fadda, A. (2012). Determination of free radical scavenging activity of plant extracts through DPPH assay: An EPR and UV–Vis study. *Food Analytical Methods*, *5*, 759–766. https://doi.org/10.1007/s12161-011-9306-1
50- Shang, H., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y., & Zheng, Y. (2011). Effect of exogenous γ-aminobutyric acid treatment on proline accumulation and chilling injury in peach fruit after long-term cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(4), 1264–1268. https://doi.org/10.1021/jf104424z
51- Shi, Q., Ding, F., Wang, X., & Wei, M. (2007). Exogenous nitric oxide protects cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, *45*(8), 542–550. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2007.05.005
52- Sudhakar, C., Lakshmi, A., & Giridarakumar, S. (2001). Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*, *161*(3), 613–619. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00450-2
53- Suzuki, N., & Mittler, R. (2006). Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction. *Physiologia Plantarum*, *126*(1), 45–51. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00582.x
54- Valenzuela, J.L., Manzano, S., Palma, F., Carvajal, F., Garrido, D., & Jamilena, M. (2017). Oxidative stress associated with chilling injury in immature fruit: postharvest technological and biotechnological solutions. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(7), 1467. https://doi.org/10.3390/ijms18071467
55- Vijayakumari, K., & Puthur, J.T. (2016). γ-Aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in *Piper nigrum* Linn. plants subjected to PEG-induced stress. *Plant Growth Regulation*, *78*, 57–67. https://doi.org/10.1007/s10725-015-0074-6
56- Wang, N.N., Yang, Y.C., Sun, D.W., Pu, H., & Zhu, Z. (2015). Shelf-life prediction of 'Gros Michel'bananas with different browning levels using hyperspectral reflectance imaging. *Food Analytical Methods*, *8*, 1173–1184. https://doi.org/10.1007/s12161-014-9960-1
57- Wang, Y., Luo, Z., Huang, X., Yang, K., Gao, S., & Du, R. (2014). Effect of exogenous γ-aminobutyric acid (GABA) treatment on chilling injury and antioxidant capacity in banana peel. *Scientia Horticulturae*, *168*, 132–137. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.01.022
58- Wisniewski, M., Bassett, C., & Gusta, L.V. (2003). An overview of cold hardiness in woody plants: Seeing the forest through the trees. *HortScience*, *38*(5), 952–959. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.38.5.952
59- Wolfe, J.O.E. (1978). Chilling injury in plants—the role of membrane lipid fluidity. *Plant, Cell and Environment*, *1*(4), 241–247. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1978.tb02036.x
60- Yang, A., Cao, S., Yang, Z., Cai, Y., & Zheng, Y. (2011). γ-Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defence response of peach fruit. *Food Chemistry*, *129*(4), 1619–1622. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.018
61- Zhou, C., Dong, W., Jin, S., Liu, Q., Shi, L., Cao, S., Li, S., Chen, W., & Yang, Z. (2022). γ-Aminobutyric acid treatment induced chilling tolerance in postharvest peach fruit by upregulating ascorbic acid and glutathione contents at the molecular level. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 1059979. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1059979
62- Zhu, X., Luo, J., Li, Q., Li, J., Liu, T., Wang, R., Chen, W., & Li, X. (2018). Low-temperature storage reduces aroma-related volatiles production during shelf-life of banana fruit mainly by regulating key genes involved in volatile biosynthetic pathways. *Postharvest Biology and Technology*, *146*, 68–78. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.08.015
63- Zsom, T., Strohmayer, E., Phuong Le Nguyen, L., Hitka, G., & Zsom-Muha, V. (2018). Chilling injury investigation by non-destructive measuring methods during banana cold storage. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, *14*, 147–158. https://doi.org/10.1556/446.14.2018.S1.14